

Министерство науки и высшего образования РФ  
Правительство города Севастополя  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Федеральный исследовательский центр  
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»  
Всероссийское гидробиологическое общество при Российской академии наук  
Русское географическое общество  
Паразитологическое общество при Российской академии наук

# Изучение водных и наземных экосистем: история и современность

Международная научная конференция, посвящённая 150-летию  
Севастопольской биологической станции —  
Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского  
и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий»

Тезисы докладов

13–18 сентября 2021 г.  
Севастополь, Российская Федерация

Севастополь  
ФИЦ ИНБЮМ  
2021

## Транскриптомный анализ гемоцитов *Planorbarius corneus* при заражении трематодами *Bilharziella polonica*

Прохорова Е. Е.<sup>1</sup>, Орлов Ю. А.<sup>1</sup>, Токмакова А. С.<sup>1</sup>, Водясова Е. А.<sup>2</sup>, Атаев Г. Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Российский государственный педагогический университет имени А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия

[elenne@mail.ru](mailto:elenne@mail.ru)

В настоящее время общепринятым считается, что основными эффекторными элементами иммунных реакций гастропод являются циркулирующие клетки гемолимфы — гемоциты, которые участвуют в распознавании, подавлении, элиминации паразита, устранении последствий инвазии [Connors et al., 2003 ; Yoshino et al., 2013 ; Pila et al., 2016 ; Атаев и др., 2020 ; и др.]. Активно изучаются формы клеточных реакций лёгочных моллюсков на заражение различными видами паразитов (в первую очередь трематодами) и искусственную иммунизацию (бактериями, экскреторно-секреторными продуктами трематод, зимозаном и пр.) [Loker, 2010 ; Sullivan, Belloir, 2013].

Наибольшее количество новой информации об иммунитете лёгочных моллюсков в настоящее время получают, секвенируя и сравнивая полные транскриптомы. Благодаря анализу экспрессии факторов защитных реакций у моллюсков с разным уровнем восприимчивости к трематодной инвазии были выявлены основные известные на сегодняшний день факторы иммунитета пульмонат [Lockyer et al., 2007 ; Larson et al., 2014 ; Ming-Zhang et al., 2015 ; Schultz, Adema, 2017]. Анализ различий между транскриптомами резистентных и чувствительных, заражённых и интактных особей на уровне экспрессии генов позволяет выявлять общие механизмы функционирования системы иммунитета. Однако большинство работ выполнено на моллюсках лабораторных линий одного вида — *Biomphalaria glabrata*. Публикации по изучению транскриптомов моллюсков из природных популяций единичны и разрознены [Lockyer et al., 2012 ; Larson et al., 2014 ; Lu et al., 2020 ; Seppälä et al., 2021]. Для обнаружения более общих закономерностей реализации иммунных реакций моллюсков и более полного понимания механизмов работы иммунной системы требуется расширение круга рассматриваемых моделей, изучение природных популяций, характеризующихся большим генетическим полиморфизмом моллюсков и видовым разнообразием паразитов, а также сопоставление данных геномики, транскриптомики и иммунологических исследований.

Моллюски *Planorbarius corneus* являются типичными представителями фауны Евразии, широко используемыми в паразитологических, иммунологических исследованиях. Ранее был выполнен анализ экспрессии генов, кодирующих факторы защитных реакций *P. corneus* при заражении трематодами. Было показано, что уровень экспрессии нескольких генов различается у незаражённых и заражённых трематодами разных видов моллюсков [Ataev et al., 2016].

Для перехода на новый уровень в понимании процессов, опосредующих иммунные реакции *P. corneus* на трематодную инвазию, мы применили технологии NGS. В работе использовали две группы моллюсков (по 10 особей в каждой) — интактных и заражённых трематодами *Bilharziella polonica* (сем. Schistosomatidae). Гемоциты осаждали и пулировали внутри групп, после чего выделяли тотальную РНК. Методом амплификации с поли(Т) праймерами обогатили мРНК фракцию и приготовили библиотеки для секвенирования, которое было выполнено в компании «Гено-тек» (г. Москва).

Первоначальные данные, примерно по 25 млн парных прочтений на каждый образец, предобработали (удалили технические последовательности, рРНК, генетический материал контамини-

рующих организмов и др.); в итоге суммарная библиотека включала порядка 44 млн прочтений. Из этих данных собрали общий для заражённых и незаражённых особей транскриптом. Лучшие результаты на этом этапе показал сборщик Oases. После кластеризации (95 %) транскриптов получили 488655 последовательностей со средней длиной 825,77 и медианой 554 нуклеотида. В данных обнаружили порядка 90 % известных универсальных для эукариотических и метазойных организмов ортологов и около 55 % таких генов для семейства моллюсков. Найдя и транслировав открытые рамки считывания, определили предполагаемый протеом гемоцитов, который включал 56865 полипептидов. Их аннотировали по сходству с уже известными белками, используя BLAST и базу данных NCBI nr, предсказали в них домены с помощью InterProScan, после чего для аннотации применили систему генетической онтологии. Метаболические пути определили алгоритмом BlastKOALA в связке с базой данных KEGG. В данных обнаружили около 2 тыс. белков с доменами, характерными для эффекторов иммунного ответа. Самыми распространёнными оказались иммуноглобулиновый и фибриногеновый.

Для анализа дифференциальной экспрессии генов при заражении моллюска трематодами применили пакет для R, edgeR. В результате обнаружили 1657 дифференциально экспрессирующихся транскриптов, из которых 721 демонстрировал повышенную экспрессию у заражённых животных, а 936 — пониженную. Из этих дифференциально экспрессирующихся последовательностей аннотировать удалось только 578 (370 с повышенной и 208 с пониженной экспрессией). Так, гемоциты инфицированных улиток, судя по дифференциально экспрессирующимся транскриптам, имеют бóльшую репликационную, транскрипционную и трансляционную активность, а также более интенсивный энергетический метаболизм. Они демонстрировали бóльшую представленность транскриптов, кодирующих белки внеклеточного матрикса, и некоторые хорошо известные эффекторы иммунного ответа моллюсков, такие как дерматопоинтин и фактор агрегации амёбоцитов. Настоящее исследование предоставляет самый большой объём генетических данных, а также информации об иммунных реакциях моллюска *Planorbarius corneus* на данный момент.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-54-15003 НЦНИ\_а.